



09/887, 698

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **09124652 A**(43) Date of publication of application: **13 . 05 . 97**

(51) Int. Cl.

**C07D487/22**  
**A61K 31/40**  
**A61K 49/00**  
**G01N 33/50**  
**// A61N 5/06**

(21) Application number: **07315710**(22) Date of filing: **30 . 10 . 95**(71) Applicant: **TOYO HATSUKA KOGYO KK**

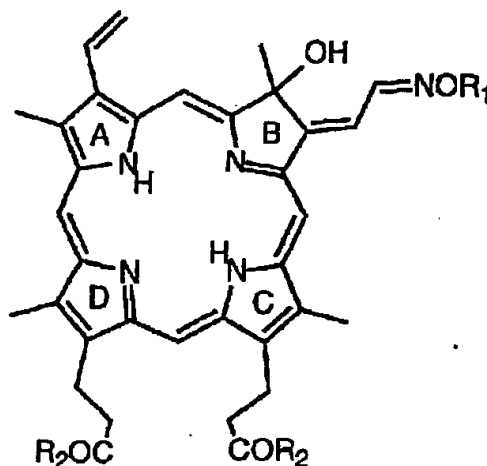
(72) Inventor: **SAKATA ISAO**  
**NAKAJIMA SUSUMU**  
**KOSHIMIZU KOICHI**  
**TAKADA HIROYUKI**  
**INUI YASUSHI**

## (54) PORPHYRIN DERIVATIVE AND USE THEREOF

## (57) Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide the above compound having accumulation property to cancer cell, reactivity to external energy and destructing action on cancer cell, free from toxicity to normal cells and useful as an agent for the treatment or the diagnosis of cancer.

**SOLUTION:** This porphyrin compound is expressed by the formula [ $R_1$  is  $CH_3$ ,  $C_2H_5$ ,  $CH_2CH(CH_3)_2$ ,  $CH_2C_6H_5$  or  $CH_2C_6F_5$ ;  $R_2$  is a residue produced by removing H from aspartic acid) (including position isomers obtained by exchanging the functional groups of the side chains on the rings A and B among four tetrapyrrole rings in the formula), e.g. 13, 17-bispropionylaspartic acid-3-ethenyl-7-hydroxy-8-methoxyiminoethylidene-2,7,12,18-tetramethyl-porphyrin. The compound of the formula can be produced, e.g. by producing a chlorin derivative having corresponding aldehyde group, bonding an aspartic acid residue to the derivative and condensing the product to a hydroxylamine derivative.



COPYRIGHT: (C)1997,JPO

**MACHINE-ASSISTED TRANSLATION (MAT):**

<b>(19)【発行国】</b> 日本国特許庁 ( J P )	<b>(19)[ISSUING COUNTRY]</b> Japan Patent Office (JP)
<b>(12)【公報種別】</b> 公開特許公報 ( A )	<b>(12)[GAZETTE CATEGORY]</b> Laid-open Kokai Patent (A)
<b>(11)【公開番号】</b> 特開平 9 - 1 2 4 6 5 2	<b>(11)[KOKAI NUMBER]</b> Unexamined Japanese Patent (1997-124652) Heisei 9-124652
<b>(43)【公開日】</b> 平成 9 年 ( 1 9 9 7 ) 5 月 1 3 日	<b>(43)[DATE OF FIRST PUBLICATION]</b> May 13, Heisei 9 (1997)
<b>(54)【発明の名称】</b> ポルフィリン誘導体とその用途	<b>(54)[TITLE of the Invention]</b> A porphyrins derivative and its application
<b>(51)【国際特許分類第 6 版】</b> C07D487/22 A61K 31/40     ADU 49/00 G01N 33/50	<b>(51)[IPC Int. Cl. 6]</b> C07D487/22 A61K 31/40     ADU 49/00 G01N 33/50
// A61N 5/06	// A61N 5/06
<b>【 F I 】</b> C07D487/22 A61K 31/40     ADU 49/00     A G01N 33/50     T Z A61N 5/06     E	<b>[FI]</b> C07D487/22 A61K 31/40     ADU 49/00     A G01N 33/50     T Z A61N 5/06     E

【審査請求】 未請求	[REQUEST FOR EXAMINATION] No
【請求項の数】 3	[NUMBER OF CLAIMS] 3
【出願形態】 書面	[FORM of APPLICATION] Written
【全頁数】 9	[NUMBER OF PAGES] 9
(21) 【出願番号】 特願平7-315710	(21)[APPLICATION NUMBER] Japanese Patent Application (1995-315710) Heisei 7-315710
(22) 【出願日】 平成7年(1995)10月3 0日	(22)[DATE OF FILING] (1995.10.30)
(71) 【出願人】	(71)[PATENTEE/ASSIGNEE]
【識別番号】 591273432	[ID CODE] 591273432
【氏名又は名称】 東洋薄荷工業株式会社	[NAME OR APPELLATION] K.K., Toyo Hakka Kogyo
【住所又は居所】 岡山県浅口郡里庄町大字浜中7 5番地の1	[ADDRESS or DOMICILE]
(72) 【発明者】	(72)[INVENTOR]
【氏名】 阪田 功	[NAME OR APPELLATION] Sakata Isao

【住所又は居所】

[ADDRESS or DOMICILE]

岡山県笠岡市小平井 1 7 6 6 番  
地の 4

(72) 【発明者】

(72)[INVENTOR]

【氏名】

[NAME OR APPELLATION]

中島 進

Nakajima Susumu

【住所又は居所】

[ADDRESS or DOMICILE]

北海道旭川市緑が丘 5 条 4 丁目  
4 番地の 3 4

(72) 【発明者】

(72)[INVENTOR]

【氏名】

[NAME OR APPELLATION]

小清水 弘一

Koshimizu Koichi

【住所又は居所】

[ADDRESS or DOMICILE]

奈良県奈良市法蓮山添西町 8 5  
6 番地の 1 0

(72) 【発明者】

(72)[INVENTOR]

【氏名】

[NAME OR APPELLATION]

高田 弘之

Takada Hiroyuki

【住所又は居所】

[ADDRESS or DOMICILE]

岡山県浅口郡里庄町里見 2 0 9  
8 番地

(72) 【発明者】

(72)[INVENTOR]

**【氏名】**

乾 裕史

**[NAME OR APPELLATION]**

Inui Yasushi

**【住所又は居所】**広島県福山市春日町浦上 7 7 9  
番地の 7**[ADDRESS or DOMICILE]****(74) 【代理人】****(74)[AGENT]****【弁護士】****【氏名又は名称】**

高橋 三郎

**[NAME OR APPELLATION]**

Takahashi Saburo

**(57) 【要約】****(57)[ABSTRACT of the Disclosure]****【目的】**

本発明は、単一成分性、安定性、水溶性かつ特定の臓器特に癌への親和性に優れ、正常組織からの排出速度が速く光毒性を低減させることができ、しかもチタンサファイアレーザー（670 nm以上600 nm以下の波長）および半導体レーザー（670 nm）の使用が可能であるポルフィリン誘導体を合成・探索し、光物理化学的診断治療（PDT）に適した光増感剤を提供することを目的とする。

**[PURPOSE]**

This invention aims at providing the following. It is excellent in single component property, stability, a water solubility, and the affinity to a specific organ, especially cancer, and the ejection speed from a normal tissue can be quick, and an optical toxicity can be reduced, and it compounds \* retrieves for the porphyrin derivative which can perform use of a titanium sapphire laser (wavelength of 670 nm or more and 600 nm or less), and semiconductor laser (670 nm), the photosensitizer appropriate to an optical physicochemical diagnostic treatment (PDT).

**【構成】****[CONSTITUTION]**

本発明は、血液由来のプロトポルフィリンより合成誘導体化したアルデヒド基担持クロリン類に縮合させて得られたポルフィリン誘導体で構成される。

This invention consists of porphyrin derivatives which the aldehyde-group carrying chlorin which carried out the synthetic derivatization was made to condense, and were obtained from the protoporphyrin derived from the blood.

## 【特許請求の範囲】

## [CLAIMS]

## 【請求項 1】

## [CLAIM 1]

一般式 (I) 化 1

General formula (I) Compound 1

(式中、 $R_1$ は $CH_3$ 、 $C_2H_5$ 、 $CH_2CH(CH_3)_2$ 、 $CH_2C_6H_5$ 、 $CH_2C_6F_5$ 、 $R_2$ はアスパラギン酸から水素を除いた残基)で示されるポルフィリン化合物。(但し、式中、4つのテトラピロール環のうちA及びB環の側鎖の官能基がそれぞれ入れ替わった位置異性体も含む。)

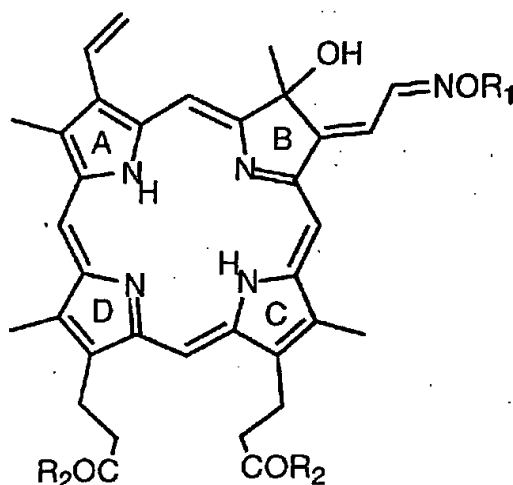
(In the Formula,  $R_1$  is  $CH_3$ ,  $C_2H_5$ , and  $CH_2CH(CH_3)_2$ ,  $CH_2C_6H_5$ ,  $CH_2C_6F_5$ ,  $R_2$  is the residue excluding hydrogen from aspartic acid.)

The porphyrin compound shown above.

(However, in the Formula, the position isomer which the functional group of the side chain of A and B ring replaced among four tetrapyrrol rings, respectively is also included.)

## 【化 1】

## [FORMULA 1]



**【請求項 2】**

請求項 1 記載のポルフィリン化合物からなる光物理化学的診断用および／または治療用増感剤。

**[CLAIM 2]**

The object for an optical physicochemical diagnosis and/or the sensitizer for a treatment which are made of a porphyrins compound of Claim 1.

**【請求項 3】**

癌の診断および／または治療に使用される請求項 2 記載の光物理化学用増感剤。

**[CLAIM 3]**

The sensitizer for optical physical chemistry of Claim 2 used for a diagnosis and/or treatment of cancer.

**【発明の詳細な説明】****[DETAILED DESCRIPTION of the INVENTION]****【0001】****[0001]****【産業上の利用分野】**

本発明は、ポルフィリン誘導体とその用途、特に新規なポルフィリン誘導体を有効成分とする光物理化学的診断用および治療用の増感剤および／または光物理化学による癌の診断および治療に用いる薬剤に関する。

**[INDUSTRIAL APPLICATION]**

This invention relates to a porphyrin derivative, its application, the object for an optical physicochemical diagnosis which contains a new porphyrin derivative as an active ingredient especially and the sensitizer for a treatment, and/or the medicine used for the diagnosis and treatment of cancer by optical physical chemistry.

**【0002】****[0002]****【従来の技術】**

癌の新しい治療法として光物理化学的診断治療（PDT）が行

**[PRIOR ART]**

The optical physicochemical diagnostic treatment (PDT) is performed as a new cure for

われている。これはある種のポルフィリン化合物を静脈注射などの方法により投与し、癌組織に保持させた後、レーザー光を照射して癌組織のみを選択的に破壊するというものである。PDTは、ポルフィリンの癌組織に保持される時間が正常組織に比べて長いという性質と光増感作用を持つという2つの性質を利用している。過去15年間に世界中で5000人以上の人々がPDTによる悪性腫瘍の治療を受けており、癌治療法の1つとして定着しつつある。PDTにより良好な治療成績が報告されている癌種は、網膜癌、皮膚癌、食道癌、表在性膀胱癌、初期の肺癌など多岐に渡っている。

#### 【0003】

現在PDTに使用されている薬剤は主としてヘマトポルフィリン誘導体 (HPD) および photofrin II ▲ R ▼ (HPDのエーテル体および／またはエステル体の二量体) である。HPDはヘマトポルフィリンを酢酸中硫酸処理し、さらに0.1N水酸化ナトリウムで処理して得られる混合物である。また、photofrin II ▲ R ▼ は1995年より日本で臨床応用されているが、HPDの疎水性の高い成分を主と

cancer.

After this administering a porphyrin compound of a certain kind by methods, such as intravenous injection, and making it conserve it to a cancer tissue, it irradiates a laser light and destroys only a cancer tissue selectively.

PDT utilizes two character of character in which the hour conserved at the cancer tissue of porphyrin is long compared with a normal tissue, and character to have a photosensitization effect.

5000 or more people were undergoing the treatment of the malignant tumor by PDT all over the world in past 15 years, it is fixed as one of the cancer cures.

Retina cancer, skin cancer, an oesophageal cancer, a superficial bladder cancer, the lung cancer of an initial stage, etc. are going across the tumor type to which favorable treatment results are reported by PDT variably.

#### [0003]

The medicines used for PDT now are mainly a hematoporphyrin derivative (HPD) and photofrin II R (the ether object of HPD, and/or dimer of an ester).

HPD is a mixture obtained by carrying out the sulfuric acid treatment in an acetic acid of the hematoporphyrin, and further processing by 0.1-N sodium hydroxide.

Moreover, the clinical application of photofrin II R is carried out from 1995 in Japan.

However, the component with the high hydrophobic nature of HPD is mainly included, with HPD, it is a complicated blend and an active ingredient is unknown.





して含んでおり、HPDとともに複雑な混合物であり活性成分が不明である。また成分比が一定でないために治療効果が極めて不安定である。

Moreover, since the component ratio is not fixed, a therapeutic effect is very unstable.

## 【0004】

一方、PDTのための新しいポルフィリン誘導体の特開平1-246286号、昭63-145283号、昭62-205082号、昭62-167783号、特開昭62-249986号、昭62-246580号、昭62-246579号および昭62-205081号に、そしてJ. F. Evensenらにより[Br. J. Cancer, 55, 483 (1987)]に開示されている。また、クロリン誘導体の特開平1-250381号、昭63-290881号、昭62-5986号、昭62-5985号、昭62-5924号、昭62-5912号、昭58-981号および昭57-185220号に、ポルフィリンダイマー誘導体が米国特許4649151号(1987)、特開昭62-63586号および昭60-500132号に、ポルフィリン金属錯体の特開平1-221382号、昭63-104987号および昭57-31688号に開示されている。ごく最近になって、670

## [0004]

On the other hand, the new porphyrin derivative for PDT is indicated at Unexamined-Japanese-Patent No. 1-246286, 63-145283, Showa 62 -205082, Showa 62 -167783, Unexamined-Japanese-Patent No. 62-249986, 62-246580, Showa 62 -246579, and Showa 62 -205081, and it is indicated by (Br.J.Cancer, 55,483 (1987)) by J.F.Evensen et al.

Moreover, a chlorin derivative is indicated at Unexamined-Japanese-Patent No. 1-250381, 63-290881, Showa 62 -5986, Showa 62 -5985, Showa 62 -5924, Showa 62 -5912, Showa 58 -981, and Showa 57 -185220, a porphyrin dimer derivative is indicated by US Patent 4649151 (1987), Unexamined-Japanese-Patent No. 62-63586, 60-500132, and the porphyrin metal complex is indicated at Unexamined-Japanese-Patent No. 1-221382, 63-104987, and Showa 57 -31688.

Porphyrin derivatives, such as meta- tetra hydroxyphenyl chlorin (m-THPC) which has absorption in vicinity 670 nm, and a benzo porphyrin derivative (BPD), have also very recently been developed.

We also examined many things, it is an open example about a chlorin derivative to Unexamined-Japanese-Patent No. 61-7279, 60-92287, the porphyrin metal

n m付近に吸収を持つメターテ  
トラヒドロキシフェニル クロ  
リン (m-THPC) やベンゾ  
ポルフィリン誘導体 (BPD)  
などのポルフィリン誘導体も開  
発されてきた。我々も種々検討  
し、クロリン誘導体の特開昭6  
1-7279号および昭60-  
92287号に、ポルフィリン  
金属錯体の特開平2-1382  
80号、昭62-174079  
号、特公平4-24661号、  
平6-15545号および平7  
-25763号に、バクテリオ  
クロリン誘導体の特開昭63-  
196586号に開示してき  
た。しかしながら、PDT用の  
増感剤として用いるには上記化  
合物では合成、安定性、水溶性  
の面において実用化が困難であ  
った。そこで更に検討を行い、  
アルコキシポルフィリンアミノ  
酸誘導体およびクロリン誘導体  
を特開平5-97857号に開  
示し、PDT用の増感剤として  
の有効性を示したが、さらに高  
い治療効果の得られる誘導体が  
期待されている。

## 【0005】

またPDTに使われるレーザー  
光の組織透過性の問題もある。  
HPDやphotofrin  
II ▲R ▼は最大吸収波長が6  
30 nmであり、モル吸光係数  
も3000と低い。630 nm

complex was indicated at  
Unexamined-Japanese-Patent No. 2-138280,  
62-174079, the Japanese Patent Publication  
No. 4-24661, 6-15545, and Heisei 7 -25763, the  
bacteriochlorin derivative has been indicated in  
Unexamined-Japanese-Patent No. 63-196586.  
However, in the point of the synthesis, stability,  
and the water solubility in the above-mentioned  
compound, utilization was difficult for using as a  
sensitizer for PDT.

Then, it examined further and the alkoxy  
porphyrin amino acid derivative and the chlorin  
derivative were indicated in  
Unexamined-Japanese-Patent No. 5-97857, the  
effectiveness as a sensitizer for PDT was  
shown.

However, the derivative from which a further  
high therapeutic effect is obtained is anticipated.

## [0005]

Moreover, there is also a problem of a tissue  
permeability of the laser light used for PDT.  
The maximum absorption wavelength of HPD or  
photofrin II R is 630 nm.  
The molar absorption coefficient is also as low  
as 3000.

の光では組織透過性が悪く、PDTの治療効果が5～10mmの表層癌に限定されてしまっている。

**【0006】**

一方レーザー装置の方にも問題がある。現在最もよく使用されている色素レーザーは安定性が悪く、運用上取扱いが難しい。チタンサファイアレーザーを用いれば運用がかなり簡単になる。しかしこのレーザーを用いると670nm以上600nm以下の吸収波長に限られ、630nm付近の吸収波長を持つHPDやPtofrin II ▲ R ▼には適用できない。最近、半導体レーザー（670nm）も開発され670nmに吸収を持つ化合物が有利とされてきた。

**【0007】**

更に薬剤の副作用として一時的な光過敏症を引き起こすことが知られている。このため薬剤投与後、皮膚などの正常組織が光増感作用で破壊されないように患者を長期間暗所に閉じ込めておかなければならない。HPDおよびPtofrin II ▲ R ▼は正常組織からの排出速度が遅いので長いときには6週間以上も光過敏症が残ることもある。現在使用されている薬剤は

With the 630 nm light, a tissue permeability will be bad and will be limited to the surface-layer cancer which is 5 - 10 mm of therapeutic effects of PDT.

**[0006]**

On the other hand, there is a problem also in a laser apparatus.

The dye laser present most often used has bad stability, and the handling on implementation is difficult for it.

If a titanium sapphire laser is used, implementation will become quite easily.

However, if this laser is used, it will be restricted to the absorption wavelength of 670 nm or more and 600 nm or less, it is inapplicable to HPD and Ptofrin II R with the absorption wavelength near 630 nm.

Recently, semiconductor laser (670 nm) is also developed and the compound which has absorption in 670 nm has been made advantageous.

**[0007]**

Furthermore, causing an optical hypersensitivity temporary as a side effect of a medicine is known.

For this reason, after a medicine administration, you have to confine a patient in a dark place for a long period of time so that it may not destroy normal tissues, such as the skin, in a photosensitization effect.

Since the ejection speed from a normal tissue is slow, when long, as for HPD and Ptofrin II R, an optical anaphylaxis may remain six weeks or more.

こうした多くの問題点を抱えておりHPDおよびPhotofrin II ▲R ▼に代わる新しい薬剤の開発が強く望まれている。そこで上記薬剤が持つ欠点を克服するものとして単一化合物でありかつより長波長領域(650~800nm)に吸収を持つ化合物が第2世代の薬物として提案されている。現在フタロシアニンなどのアザポルフィリン類、クロリン・バクテリオクロリンなどのポルフィリン類、テキサフィリンなどの環拡張型ポルフィリン類などさまざまな化合物が研究されている。

The medicine used now is holding the trouble of such many, and development of the new medicine which replaces HPD and Photofrin II R is desired strongly.

Then, the compound which is a single compound and has absorption in a longer-wavelength range (650 - 800 nm) as what conquers the fault which the above-mentioned medicine has is proposed as a 2nd generation's medicine.

Various compounds, such as the aza porphyrin present, such as phthalocyanine, porphyrin, such as chlorin \* bacteriochlorin, and ring extension type porphyrin, such as a texaphyrin, are studied.

#### 【0008】

#### [0008]

#### 【発明が解決しようとする課題】

本発明者らは、単一成分であり安定かつ癌組織に対する良好な集積性を維持したまま、正常組織からは排出速度が速く光毒性を低減させ、しかもできうればチタンサファイアレーザー(670nm以上600nm以下の波長)ならびに半導体レーザー(670nm)の使用が可能であるポルフィリン誘導体を探索し、PDTに適した光増感剤を提供することを目的として、種々の研究を重ねた。

#### 【PROBLEM to be solved by the Invention】

The present inventors repeated various research for the purpose of providing the following.

It is a single component, and it is stable, and a normal tissue to ejection speed is quick, maintaining the favorable integration property with respect to a cancer tissue, and an optical toxicity is reduced.

And if it can do, it will retrieve for the porphyrin derivative which can perform use of a titanium sapphire laser (wavelength of 670 nm or more and 600 nm or less), and semiconductor laser (670 nm), the photosensitizer appropriate to PDT.

【0009】

[0009]

## 【問題を解決するための手段】

その結果、以前出願の誘導体(特開平5-97857号)の中で血液由来のプロトポルフィリンより合成誘導体化したクロリン類の側鎖に、ある種のイミノ基およびアスパラギン酸残基を結合させると、単一成分で癌組織に対して優れた集積性と正常組織より速やかな排出性を、更に670nm以上の最長波長吸収端を持ち、かつ良好なPDT効果を有することを見出した。

## [MEANS to solve the Problem]

Consequently, when a certain kind of an imino group and an aspartic acid residue are combined with the side chain of the chlorin which carried out the synthetic derivatization from the protoporphyrin derived from the blood in the derivative (Unexamined-Japanese-Patent No. 5-97857) which applied before, of a single component, it has the longest wavelength absorption edge 670 nm or more for the integration property which was excellent to the cancer tissue, and exhaustibility more prompt than a normal tissue, and has the favorable PDT effect.

The above was discovered.

【0010】

また本発明者らは以前出願の誘導体(特開平5-97857号)と同様に、これらクロリン誘導体とアルブミンの混液の紫外線吸収(UV)スペクトルを分析したところ、スペクトルの動向が正の方向すなわち特定臓器、特に癌への親和性につながっていることが分かった。

[0010]

Moreover, when the present inventors analyzed the ultraviolet-absorption (UV) spectrum of the mixed liquid of these chlorin derivative and albumin, like derivative (Unexamined-Japanese-Patent No. 5-97857) which applied before, it turned out that the trend of a spectrum leads to the affinity to a positive direction, i.e., a specific organ, especially cancer.

【0011】

一方、本発明者らは以前出願の誘導体(特願平4-276488号)と同様に薄層クロマトグラフィー(TLC)や高速液体クロマトグラフィー(HPLC)

[0011]

On the other hand, when the present inventors evaluated these chlorin derivative by the photosensitization oxidation reaction using the group of a dansyl methionine substrate which can evaluate the reactive strength with respect

により光に対する反応性の強弱を簡便に評価できるダンシルメチオニン基質の系を用いる光増感酸化反応によりこれらクロリン誘導体を評価したところ、強い作用を持つことがわかった

to a light by thin layer chromatography (TLC) or the high performance liquid chromatography (HPLC) easily like the derivative (Japanese Patent Application No. 4-276488) which applied before, it found that it has a strong effect.

## 【0012】

本発明は上記の知見に基づいて完成されたものであって、その要旨は

一般式 (I) 化1

(式中、 $R_1$ は $CH_3$ 、 $C_2H_5$ 、 $CH_2CH(CH_3)_2$ 、 $CH_2C_6H_5$ 、 $CH_2C_6F_5$ 、 $R_2$ はアスパラギン酸から水素を除いた残基)で示されるポルフィリン化合物(但し、式中、4つのテトラピロール環のうちA及びB環の側鎖の官能基がそれぞれ入れ替わった位置異性体も含む)を表わす。

## [0012]

This invention is perfected based on the above-mentioned findings, comprised such that the summary is, general formula (I) Compound 1

(In the Formula,  $R_1$  is  $CH_3$ ,  $C_2H_5$ , and  $CH_2CH(CH_3)_2$ ,  $CH_2C_6H_5$ ,  $CH_2C_6F_5$ ,  $r_2$  is the residue excluding hydrogen from aspartic acid.)

The porphyrin compound shown above

(However, in the Formula, the position isomer which the functional group of the side chain of A and B ring replaced among four tetrapyrrol rings, respectively is also included)

The above is expressed.

## 【0013】

本発明のポルフィリン化合物は、自体常套によって製造することができる。一般式(I)に対応するポルフィリン化合物にあっては、まずアルデヒド基を有する化合物に誘導体化し(工程a)、得られたクロリン誘導体にアスパラギン酸の残基を結合せしめる(工程b)、そして種々のヒドロキシルアミン誘導体を縮合させる(工程c)。また必ずしも工程(b)、(c)は順次反

## [0013]

The porphyrins compound of this invention can be manufactured by itself conventionality.

With the porphyrin compound corresponding to general formula (I), a derivatization is carried out to the compound which has an aldehyde group first (process a), and various hydroxylamine derivative is combined the residue of aspartic acid and (process b) condensed to the obtained chlorin derivative (process c).

Moreover, it is not necessary to make process (b) and (c) not necessarily react in order.



応させる必要はなく (c)、(b) The order of a process may replace like (c) and  
のように工程順が代わっても良 (b).  
い。

## 【0014】

構成工程 (a) は J. E. Falk 著 [Porphyrins and Metalloporphyrins] (Elsevier 発行、1975 年) および D. Dolphin 著 [The Porphyrins] (Academic Press 発行、1978 年) 等に記載された常套の方法によってこれを行うことができる。

## [0014]

Composition process (a) can perform this by the conventional method indicated by J.E.Falk work (Porphyrins and Metalloporphyrins) (Elsevier issue, 1975), D.Dolphin work (The Porphyrins) (Academic Press issue, 1978), etc.

## 【0015】

例えば (I) に対応する  $R_1$ 、 $R_2$  を有するポルフィリン化合物であるものは、特開昭 61-7279 号、特公昭 63-13997 号、特公平 6-15545、特公平 7-25763 号、特開平 2-138280 号、特開平 4-59779 号、特開平 5-97857 号および特願平 3-323597 号に記載された方法に従ってこれを調製すれば良い。すなわちクロリン化工工程 (a) についてはプロトポルフィリン ジメチルエステル (以下 PP-Me とする) を光化学反応処理して得られた 1-ヒドロキシ-2-ホルミルエチリデン-プロトポルフィリンジ

## [0015]

For example, what is the porphyrins compound which has  $R_1$  corresponding to (I) and  $R_2$  should just prepare this according to the method indicated by Unexamined-Japanese-Patent No. 61-7279, Japanese Patent Publication No. 63-13997, the Japanese Patent Publication No. 6-15545, 7-25763, Unexamined-Japanese-Patent No. 2-138280, 4-59779, 5-97857, and Japanese Patent Application No. 3-323597.

That is, about chlorin-ized process (a), the 1-hydroxy -2- formyl ethylidene-protoporphyrin dimethyl ester (henceforth P- Me) obtained by carrying out photochemical-reaction processing of the protoporphyrin dimethyl ester (henceforth PP-Me) is prepared.

(However, the 3-hydroxy -4- formyl ethylidene-protoporphyrin dimethyl ester which

メチルエステル（以下P-Me  
と言う）を調製する（ただし、  
4つのテトラピロール環のうち  
AおよびB環の側鎖の官能基が  
それぞれ入れ替わった3-ヒド  
ロキシ-4-ホルミルエチリデ  
ン-プロトポルフィリン ジメ  
チルエステル体も含む。）。

the functional group of the side chain of A and B  
ring replaced among four tetrapyrrol rings,  
respectively is also included.).

## 【0016】

次にアミノ酸の残基の結合工程  
(b)に付す。すなわち、 $R_2$   
が水酸基であるポルフィリン化  
合物(I)にアスパラギン酸を  
反応させて、 $R_2$ がアスパラギ  
ン酸担持ポルフィリン化合物  
(I)を製造する。このものは  
泉屋ら著「ペプチド合成の基礎  
と実験」(丸善発行、1985年)  
等に記載された常套の方法によ  
ってこれを行うことができ、特  
開昭64-61481号、特公  
平7-25763号、特開平2  
-138280号および特開平  
4-59779号に記載された  
方法に従ってこれを調製すれば  
よい。

## [0016]

Next, joint process of the residue of an amino  
acid (b) is given.

That is, aspartic acid is made to react to the  
porphyrin compound (I) whose  $R_2$  is a hydroxyl  
group, and  $R_2$  manufactures an aspartic acid  
carrying porphyrin compound (I).

This thing can perform this by the conventional  
method indicated by Izumiua work (the  
foundation and experiment of peptide  
synthesis) (Maruzen issue, 1985) etc., what is  
sufficient is just to prepare this according to the  
method indicated by  
Unexamined-Japanese-Patent No. 64-61481,  
the Japanese Patent Publication No. 7-25763,  
Unexamined-Japanese-Patent No.  
2-138280, 4-59779.

## 【0017】

この場合、要はポルフィリン化  
合物の側鎖にアスパラギン酸の  
残基を導入すればよいから、  
(I)の $R_2$ 側鎖のカルボキシ  
ル基とアスパラギン酸のアミノ  
基との間で反応を進行させるこ  
とが好ましく、このため前者の

## [0017]

In this case, since what is sufficient is just to  
introduce the residue of the aspartic acid into  
the side chain of a porphyrins compound in  
short, it is desirable to advance a reaction  
between the carboxyl group of the  $R_2$  side chain  
of (I) and the amino group of aspartic acid, for  
this reason, the former carboxyl group and/or



カルボキシル基および／または後者のアミノ基を常套の反応性基に変換したり、両者に存在する反応に関与することが好ましくない官能基を適宜に保護することが考慮されてよい。なお、いずれの場合も適宜脱水剤や脱酸剤のような反応促進剤や縮合剤の使用も考慮されてよい。

the latter amino group are transformed into a conventional reactive group, it may consider protecting suitably the functional group participating in the reaction which exists in both is not desirable.

In addition, in any case, it may also consider use of a reaction accelerator like a dehydrating agent or a deoxidizer, or a condensing agent suitably.

**【0018】**

以上のようにして構成したクロリン化合物を縮合工程(c)に付す。P-Meに、ヒドロキシルアミン誘導体を反応させて縮合体ポルフィリン化合物を製造する。このものは一般有機化学実験書中[ヒドロキシルアミンとアルデヒド化合物との縮合反応]に記載された常套の方法によってこれを行うことができる。なお人為的に合成する代わりに、植物や動物のような天然資源からこれを採取してもよい。

**[0018]**

The chlorin compound comprised as mentioned above is given to condensation process (c).

A hydroxylamine derivative is made to react to P-Me, and a condensation-product porphyrins compound is manufactured.

This thing can perform this by the conventional method indicated by the general organic-chemistry experiment in the letter (condensing reaction of the hydroxylamine and an aldehyde compound).

In addition, instead of compounding artificially, it may collect this from a natural resource like a plant or an animal.

**【0019】**

以下、代表例を挙げてポルフィリン化合物(I)の調製を更に具体的に説明する。例えばP-Meを加水分解して得られた1-ヒドロキシ-2-ホルミルエチリデン-プロトポルフィリン(以下Pと言う)を調製する(ただし、4つのテトラピロール環のうちAおよびB環の側鎖の官

**[0019]**

Hereafter, a representative example is given and manufacture of a porphyrins compound (I) is still more specifically demonstrated.

For example, the 1-hydroxy-2-formyl ethylidene-protoporphyrin (it is called Following P) which hydrolyzed P-Me and was obtained is prepared.

(However, 3-hydroxy-4-formyl ethylidene-protoporphyrin which the functional



能基がそれぞれ入れ替わった 3-ヒドロキシ-4-ホルミルエチリデン-プロトポルフィリンを含む。)。これに、アスパラギン酸メチルエステル等を溶媒中で縮合剤〔例えばジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)や水溶性カルボジイミド(WSC)〕等を用いて反応せしめて、 $R_2$ の側鎖にアスパラギン酸残基が結合したポルフィリン化合物(I)を得る。次いで、ヒドロキシルアミン誘導体(例えばO-メチルヒドロキシルアミン、O-エチルヒドロキシルアミン、O-ベンジルヒドロキシルアミン等)を溶媒中で縮合剤(例えばピリジン、ピペリジン、酸、アルカリ等)を用いて反応せしめて、 $R_1$ の側鎖にこれらの化合物が縮合したポルフィリン化合物(I)を得る。その具体例としては以下のものを挙げることができる。

group of the side chain of A and B ring replaced among four tetrapyrrol rings, respectively is also included.).

Use a condensing agent (for example, a dicyclohexylcarbodiimide (DCC) and water-soluble carbodiimide (WSC)) etc. for this, an aspartic acid methyl ester etc. is made to react to it in a solvent, and the porphyrin compound (I) which the aspartic acid residue connected is obtained to the side chain of  $R_2$ .

Subsequently, hydroxylamine derivatives (for example, O- methyl hydroxylamine, O- ethyl hydroxylamine, O- benzyl hydroxylamine, etc.) are made to react using condensing agents (for example, a pyridine, a piperidine, an acid, an alkali, etc.) in a solvent, and the porphyrin compound (I) which these compounds condensed is obtained to the side chain of  $R_1$ .

The following can be mentioned as the example.

#### 【0020】

(1) 13、17-ビスプロピオニルアスパラギン酸-3-エテンル-7-ヒドロキシ-8-メトキシイミノエチリデン-2、7、12、18-テトラメチル-ポルフィン (以下NOMe-P-diAspと言う)  
(2) 13、17-ビスプロピオニルアスパラギン酸-3-エテンル-7-ヒドロキシ-8-

#### [0020]

(1) 13, 17-bis propionyl aspartic acid -3-Ethenyl- 7-hydroxy- 8-methoxyimino- ethylidene -2,7,12,18-tetramethyl-porphine (henceforth NOME-P-diAsp)  
(2) 13 17-bis propionyl aspartic-acid -3- ethenyl- 7-hydroxy- 8-ethoxy imino ethylidene -2,7,12,18-tetramethyl-porphine (henceforth NOEt-P-diAsp)  
(3) 13 17-bis propionyl aspartic-acid -3- ethenyl- 7-hydroxy- 8-isobutoxy imino ethylidene



エトキシイミノエチリデン-2,7,12,18-tetramethyl-porphine (henceforth  
 2、7、12、18-テトラメ NOisoBu-P-diAsp)  
 チルーポルフィン (以下NOE (4) 13 17-bis propionyl aspartic acid -3- ethenyl  
 t-P-diAspと言う) -7- hydroxy -8- benzyl oximino ethylidene  
 (3) 13、17-ビスプロピ -2,7,12,18-tetramethyl-porphin (henceforth  
 オニルアスパラギン酸-3-エ NOCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-P-diAsp)  
 テニル-7-ヒドロキシ-8- (5) 13 17-bis propionyl aspartic-acid -3- ethenyl-  
 イソブトキシイミノエチリデン 7-hydroxy- 8-pentafluoro benzyl oximino  
 -2、7、12、18-テトラ ethylidene -2,7,12,18-tetramethyl-porphine  
 メチルーポルフィン (以下NO (henceforth NOCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>-P-diAsp)  
 isoBu-P-diAspと  
 言う)

(4) 13、17-ビスプロピ  
 オニルアスパラギン酸-3-エ  
 テニル-7-ヒドロキシ-8-  
 ベンジルオキシイミノエチリデ  
 ン-2、7、12、18-テト  
 ラメチルーポルフィン (以下N  
 OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-P-diAs  
 pと言う)

(5) 13、17-ビスプロピ  
 オニルアスパラギン酸-3-エ  
 テニル-7-ヒドロキシ-8-  
 ペンタフルオロベンジルオキシ  
 イミノエチリデン-2、7、1  
 2、18-テトラメチルーポル  
 フィン (以下NOCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>  
 -P-diAspと言う)

## 【0021】

本発明によるポルフィリン誘導  
 体の医薬品製剤の製造は自体公  
 知法により行われ、本発明によ  
 る誘導体を適当な緩衝液で溶解  
 するだけでよい。好適な添加物  
 として例えば医薬的に認容でき

## [0021]

Manufacture of the pharmaceutical formulation  
 of the porphyrins derivative by this invention is  
 performed by the itself publicizing method, what  
 is sufficient is just to dissolve the derivative by  
 this invention with suitable buffer.  
 The solubilizing agent (for example, organic

る溶解補助剤（例えば有機溶媒）、pH調製剤（例えば酸、塩基、緩衝液）、安定剤（例えばアスコルビン酸）、賦形剤（例えばグルコース）、等張化剤（例えば塩化ナトリウム）などが配合されても良い。

**【0022】**

本発明による薬剤はPDT用薬剤としての必要十分な特性すなわち長燐光寿命、アルブミンに対する親和性、特定臓器特に癌に対する特異的集積性、Dansylメチオニン評価による光殺細胞効果、吸収波長、水溶性、純度などを充分満足しているものである。本発明による薬剤の良好な水溶性は、高濃度溶液（50 mg/ml）の製造を可能とし、更に本発明による薬剤は試験管内だけでなく生体内でも高い安定性を示す。一般に、PDT用薬剤として適用するためには本発明の薬剤を1 mg～5 mg/kg体重の量で投与するのが望ましい。

**【0023】****【作用】**

本発明にかかるポルフィリン化合物は、ポルフィリン骨格の側鎖にアミノ酸残基、またはアルデヒド縮合体を有する点に化学

solvent) which uses as a suitable additive, for example, can be admitted in pharmaceutical, pH manufacture medicine (for example, an acid, a base, buffer), a stabilizer (for example, ascorbic acid), the excipient (for example, glucose), an isotonicizing agent (for example, sodium chloride), etc. may be mixed.

**[0022]**

The medicine by this invention satisfies enough property sufficient as a medicine for PDT, i.e., long phosphor life span, the affinity with respect to albumin, a specific organ especially the specific integration property with respect to cancer, the optical cytotoxic effect by dansyl methionine evaluation, an absorption wavelength, water-soluble, purity, etc.

The favorable water solubility of the medicine by this invention enables manufacture of a high concentration solution (50 mg/ml), furthermore, the medicine by this invention shows high stability not only for the inside of a test tube but for an in vivo.

Generally, in order to use as a medicine for PDT, it is desirable to administer the medicine of this invention by the amount of a 1 mg - 5 mg/kg body weight.

**[0023]****[OPERATION]**

The porphyrins compound concerning this invention has the characteristics on a chemical structure at the point of view of having an amino acid residue or an aldehyde condensation

構造上の特徴を有し、その結果種々の生理学的もしくは薬理学的特性を発揮する。

product in the side chain of a porphyrins skeleton, as a result, various physiological or pharmacological characteristics are demonstrated.

**【0024】**

これらポルフィリン誘導体は癌細胞に選択的に集積し、かつ癌細胞からの排泄が遅い。なお、正常な臓器や細胞からは速やかに排泄されるため、それらに損傷を与えることはない。元来、ポルフィリン誘導体の殆んどものは光に対して強い作用を有するが、本発明に従ってポルフィリン誘導体の側鎖に多官能性化合物残基を導入することによって正常組織からの排泄性を高めるとともに、光毒性の発現を極力抑制するようデザインした誘導体が可能となった。また、ポルフィリンをクロリン誘導体化して波長がレッドシフトすることにより治療効果の深達度をはかることができた。これらの特性（癌親和性、光殺細胞効果、吸収波長、水溶性）に基づき、本発明のポルフィリン誘導体は特定の臓器、特に癌や悪性腫瘍に対するPDT薬剤として有用である。

**[0024]**

These porphyrins derivative is selectively integrated to a cancer cell, and the excretion from a cancer cell is slow.

In addition, from a normal organ or the cell, since it is excreted promptly, damage is not done to them.

Originally, the almost all of a porphyrins derivative has a strong effect to a light.

However, while raising the excretion property from a normal tissue by transducing a polyfunctional compound residue into the side chain of a porphyrin derivative according to this invention, the derivative designed so that an expression of an optical toxicity might be suppressed as much as possible was made.

Moreover, when the chlorin derivatization of the porphyrins was carried out and a wavelength carried out a red shift, the degree of reaching depth of a therapeutic effect was able to be measured.

Based on these properties (cancer affinity, an optical cytotoxic effect, an absorption wavelength, water solubility), the porphyrin derivative of this invention is useful as a PDT medicine with respect to a specific organ especially cancer, or a malignant.

**【0025】**

以下実施例を挙げて説明する。なお、実施例での収率はすべて

**[0025]**

An Example is given and demonstrated below. In addition, all the yields in an Example are the

出発原料であるPP-Meから  
換算して求めた値である。

values converted and calculated from PP-Me  
which is a starting material.

## 【0026】

## 【実施例】

## 実施例 1

## Pの合成

R. K. Dinelloらの方法 [The Porphyrins, Academic Press 発行、Vol. 1, 303 (1978)] に準じて合成した。PP-Me 100 g をクロロホルム 10 l に溶解し、光照射下一週間反応させた。(ポルフィリンからクロリン誘導体化) 反応後減圧濃縮し、残渣を得た。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離液: n-ヘキサン-クロロホルム) にて精製して、P-Me を得た。(50.0 g) 続いて、これをピリジン・メタノール混液中で加水分解して暗緑色結晶のPを得た。(43.0 g、収率42.7%)

## 【0027】

## 実施例 2

## ポルフィリンのアスパラギン酸誘導体化

実施例1で得たP 2 g をテトラヒドロフランに溶解しジシクロヘキシルアミン (DCHA) に

## [0026]

## [EXAMPLES]

## Example 1

## A synthesis of P

It compounded according to R.K Dinello et al. method (The Porphyrins, Academic Press issue, Vol.1,303 (1978)).

PP-Me100g was dissolved in chloroform 10l., and it was made to react for one week under photoirradiation.

(From the porphyrins to a chlorin derivatization) It evaporated after the reaction and the residue was obtained.

The obtained residue was refined in silica-gel column-chromatography - (eluting solvent: n-hexane-chloroform), and P- Me was obtained. (50.0g)

Then, this was hydrolyzed in the pyridine \* methanol mixed liquid, and P of dark green crystallization was obtained.

(43.0g, 42.7 % of yields)

## [0027]

## Example 2

## The aspartic-acid derivatization of the porphyrins

P 2g obtained in Example 1 was dissolved in tetrahydrofuran, and it considered as P-DCHA salt (2.0g) by the conventional method in the



て常法により P-DCHA 塩

(2.0 g) とした。本 DCH  
A 塩をクロロホルム 150 ml  
に溶解し、アスパラギン酸 ジ  
メチルエステル (AspMe)  
塩酸塩 2 g を加え、攪拌下に水  
溶性カルボジイミド (WSC)

2 g を徐々に加えて 1.5 時間  
反応せしめた。反応後 (TLC  
にて反応終末点を確認)、反応液  
を水洗分液後、クロロホルム層  
を減圧濃縮した。得られた濃縮  
物を酢酸エチル-エーテル-n  
-ヘキサンにて再沈殿および再  
結晶化を繰り返し行い、暗緑色  
結晶のフォトプロトポルフィニ  
ル-6、7-ビスアスパラギン  
酸テトラメチルエステル (以下  
P-AspMe と言う) を得た。  
(1.2 g、収率 17.3%)

#### 【0028】

##### 実施例 3

NOMe-P-diAsp(1)  
の合成

実施例 2 で得られた P-Asp  
Me 500 mg をピリジン 20  
ml に溶解し室温攪拌下に O-  
メチルヒドロキシルアミン塩酸  
塩 150 mg を添加、30 分間  
反応せしめた。反応後、反応液  
にクロロホルムを加え、水洗分  
液後クロロホルム層を減圧濃縮  
した。得られた濃縮物を酢酸エ  
チル-n-ヘキサンにて再沈殿  
を行い沈殿を濾取乾燥後、ピリ

dicyclohexylamine (DCHA).

This DCHA salt is dissolved in chloroform 150  
ml, 2g of aspartic acid dimethyl ester (AspMe)  
hydrochloride was added, water-soluble  
carbodiimide (WSC) 2g was added gradually  
while stirring, and it was made to react for 1.5  
hours.

The chloroform layer was evaporated after  
water-washing liquid separation for the reaction  
mixture after reaction (the reaction termination  
point of view was checked in TLC).

Reprecipitation and a recrystallization are  
performed repeatedly in an ethyl  
acetate-ether-n-hexane for the obtained  
concentrate, photo proto finyl-6 of a dark green  
crystal and

7-bis aspartic acid tetramethyl ester (henceforth  
P-AspMe) were obtained.

(1.2g, 17.3 % of yields)

#### [0028]

##### Example 3

A synthesis of NOMe-P-diAsp(1)

P-AspMe 500 mg obtained in Example 2 is  
dissolved in pyridine 20 ml, it added and 150  
mg of bottom O-methyl hydroxylamine  
hydrochlorides of room-temperature stirring was  
made to react for 30 minutes.

Chloroform was added to the reaction mixture  
after reaction, and the chloroform layer after  
water-washing liquid separation was  
evaporated.

After reprecipitating the obtained concentrate in  
an ethyl acetate-n-hexane and carrying out the  
filtering drying of the precipitate, it dissolves in

ジン 10 ml に溶解し、1 N 水酸化ナトリウム 10 ml を加え加水分解を行った。1 N 塩酸で中和後、クロロホルムにて分液し、クロロホルム層を減圧濃縮した。濃縮物をメタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、暗緑色結晶の NO Me-P-di Asp (1) を得た。(390 mg、13.9%)

pyridine 10 ml, it hydrolyzed by adding 10 ml of 1-N sodium hydroxide.

After neutralizing with 1-N hydrochloric acid, it liquid-separates under chloroform, the chloroform layer was evaporated.

The concentrate was reprecipitated in the methanol- ethyl acetate-n- hexane and NO Me-P-di Asp(1) of dark green crystallization was obtained.

(390 mg, 13.9 %)

#### 【0029】

##### 実施例 4

NO Et-P-di Asp (2) の合成

実施例 2 で得られた P-Asp Me 500 mg をピリジン 20 ml に溶解し、室温攪拌下に O-エチルヒドロキシルアミン塩酸塩 150 mg を添加、30 分間反応せしめた。反応後、反応液にクロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物を酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い沈殿を濾取乾燥後、ピリジン 10 ml に溶解し、1 N 水酸化ナトリウム 10 ml を加え加水分解を行った。1 N 塩酸で中和後、クロロホルムにて分液し、クロロホルム層を減圧濃縮した。濃縮物をメタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、暗緑色結晶の NO Et-P-di Asp (2) を得た。(420 mg、14.8 %)

#### [0029]

##### Example 4

A synthesis of NOEt-P-diAsp(2)

P-AspMe500 mg obtained in Example 2 is dissolved in pyridine 20 ml, 150 mg of O- ethyl hydroxylamine hydrochlorides was added under room-temperature stirring, and it was made to react for 30 minutes.

Chloroform was added to the reaction mixture after reaction, and the chloroform layer after water-washing liquid separation was evaporated.

After reprecipitating the obtained concentrate in an ethyl acetate-n-hexane and carrying out the filtering drying of the precipitate, it dissolves in pyridine 10 ml, it hydrolyzed by adding 10 ml of 1-N sodium hydroxide.

It liquid-separates under chloroform after neutralization by 1-N hydrochloric acid, the chloroform layer was evaporated.

The concentrate was reprecipitated in the methanol- ethyl acetate-n- hexane and NOEt-P-diAsp(2) of dark green crystallization was obtained.

(420 mg, 14.8 %)



8 %)

**【0030】**

## 実施例 5

NOisoBu-P-diAsp  
p (3) の合成

実施例 2 で得られた P-Asp  
Me500mg をピリジン 20  
ml に溶解し、室温攪拌下に O-  
イソブチルヒドロキシルアミ  
ン塩酸塩 150mg を添加、3  
0 分間反応せしめた。反応後、  
反応液にクロロホルムを加え、  
水洗分液後クロロホルム層を減  
圧濃縮した。得られた濃縮物を  
酢酸エチル-n-ヘキサンにて  
再沈殿を行い沈殿を濾取乾燥  
後、ピリジン 10ml に溶解し、  
1N 水酸化ナトリウム 10ml  
を加え加水分解を行った。1N  
塩酸で中和後、クロロホルムに  
て分液し、クロロホルム層を減  
圧濃縮した。濃縮物をメタノー  
ル-酢酸エチル-n-ヘキサン  
にて再沈殿を行い、暗緑色結晶  
の NOisoBu-P-diAsp  
s.p (3) を得た。(450mg、  
15.3 %)

**[0030]**

## Example 5

A synthesis of NOisoBu-P-diAsp(3)

P-AspMe500 mg obtained in Example 2 is  
dissolved in pyridine 20 ml, 150 mg of O-  
isobutyl hydroxylamine hydrochlorides was  
added under room-temperature stirring, and it  
was made to react for 30 minutes.

Chloroform was added to the reaction mixture  
after reaction, and the chloroform layer after  
water-washing liquid separation was  
evaporated.

After reprecipitating the obtained concentrate in  
an ethyl acetate-n-hexane and carrying out the  
filtering drying of the precipitate, it dissolves in  
pyridine 10 ml, it hydrolyzed by adding 10 ml of  
1-N sodium hydroxide.

It liquid-separates under chloroform after  
neutralization by 1-N hydrochloric acid, the  
chloroform layer was evaporated.

The concentrate was reprecipitated in the  
methanol- ethyl acetate-n- hexane and  
NOisoBu-P-diAsp(3) of dark green  
crystallization was obtained.

(450 mg, 15.3 %)

**【0031】**

実施例 6 NOCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-  
P-diAsp (4) の合成

実施例 2 で得られた P-Asp  
Me500mg をピリジン 20  
ml に溶解し、室温攪拌下に O-  
ベンジルヒドロキシルアミン

**[0031]**

## Example

A synthesis of 6NOCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-P-diAsp(4)

P-AspMe500 mg obtained in Example 2 is  
dissolved in pyridine 20 ml, 150 mg of O- benzyl  
hydroxylamine hydrochlorides was added under  
room-temperature stirring, and it was made to

塩酸塩 150 mg を添加、60 分間反応せしめた。反応後、反応液にクロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物を酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い沈殿を濾取乾燥後、ピリジン 10 ml に溶解し、1 N 水酸化ナトリウム 10 ml を加え加水分解を行った。1 N 塩酸で中和後、クロロホルムにて分液し、クロロホルム層を減圧濃縮した。濃縮物をメタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、暗緑色結晶の  $\text{NOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{-P-diAsp(4)}$  を得た。(400 mg、13.1%)

## 【0032】

## 実施例 7

$\text{NOCH}_2\text{C}_6\text{F}_5\text{-P-diAsp(5)}$  の合成

実施例 2 で得られた  $\text{P-AspMe500}$  mg をピリジン 20 ml に溶解し、室温攪拌下に O-(ペンタフルオロベンジル)ヒドロキシルアミン塩酸塩 150 mg を添加、120 分間反応せしめた。反応後、反応液にクロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物を酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い沈殿を濾取乾燥後、ピリジン 10 ml に溶解し、1 N 水酸

react for 60 minutes.

Chloroform was added to the reaction mixture after reaction, and the chloroform layer after water-washing liquid separation was evaporated.

After reprecipitating the obtained concentrate in an ethyl acetate-n-hexane and carrying out the filtering drying of the precipitate, it dissolves in pyridine 10 ml, it hydrolyzed by adding 10 ml of 1-N sodium hydroxide.

After neutralizing with 1-N hydrochloric acid, it liquid-separates under chloroform, the chloroform layer was evaporated.

The concentrate was reprecipitated in the methanol-ethyl acetate-n-hexane and  $\text{NOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{-P-diAsp(4)}$  of dark green crystallization was obtained.

(400 mg, 13.1 %)

## [0032]

## Example 7

A synthesis of  $\text{NOCH}_2\text{C}_6\text{F}_5\text{-P-diAsp(5)}$

$\text{P-AspMe500}$  mg obtained in Example 2 is dissolved in pyridine 20 ml, 150 mg of O-(pentafluoro benzyl) hydroxylamine hydrochlorides was added under room-temperature stirring, and it was made to react for 120 minutes.

Chloroform was added to the reaction mixture after the reaction, and the chloroform layer was evaporated after water-washing liquid separation.

After reprecipitating the obtained concentrate in an ethyl acetate-n-hexane and carrying out the filtering drying of the precipitate, it dissolves in pyridine 10 ml, it hydrolyzed by adding 10 ml of

化ナトリウム 10 ml を加え加水分解を行った。1 N 塩酸で中和後、クロロホルムにて分液し、クロロホルム層を減圧濃縮した。濃縮物をメタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、暗緑色結晶の  $\text{NOCH}_2\text{C}_6\text{F}_5\text{-P-diAsp(5)}$  を得た。(390 mg, 11.7 %)

1-N sodium hydroxide.

It liquid-separates under chloroform after neutralization by 1-N hydrochloric acid, the chloroform layer was evaporated.

The concentrate was reprecipitated in the methanol- ethyl acetate-n- hexane and  $\text{NOCH}_2\text{C}_6\text{F}_5\text{-P-diAsp(5)}$  of dark green crystallization was obtained.

(390 mg, 11.7 %)

### 【0033】

#### 実施例 8

摘出器官でのレーザー照射（励起蛍光スペクトル）

ニトロソアミン発癌の膵癌細胞を移植した 14～21 日目のゴールデンハムスター（1 群五匹）にリン酸緩衝液（1 ml）にて希釈した 5 mg の被験薬剤  $\text{NOMe-P-diAsp(1)}$  を静注後、癌を含む各臓器を摘出し、得られた各器官に  $\text{N}_2$ -pulsed laser ( $\text{N}_2$ , 337 nm, 2 ns, 400～1000 nm) を照射、励起蛍光スペクトルを測定し、470 nm の NADH のピーク波長を基準として 600～900 nm の波長を検討した。（ $\text{N}_2$ -PLS 測定）以下同様にして得られた結果（癌／各臓器 比）を表 1 に示す。表 1 は薬剤投与 3 時間後に摘出した各器官の各励起蛍光スペクトルを測定し、470 nm のピーク波長を基準 1 と

### [0033]

#### Example 8

Laser irradiation by the extractor official (excitation fluorescence spectrum)

After carrying out the intravenous administration of 5 mg test-drug medicine  $\text{NOMe-P-diAsp(1)}$  which diluted with phosphoric acid buffer (1 ml) to the 14-21 day golden hamster (1 group 5 animal) which transplanted the pancreatic cancer cell of a nitrosamine oncogenesis, each organ including cancer is extracted, it irradiated to each obtained organ for  $\text{N}_2$ -pulsed laser ( $\text{N}_2$ , 337 nm, 2ns and 400 - 1000 nm, an excitation fluorescence spectrum is measured, the wavelength of 600 - 900 nm was examined on the basis of the peak wavelength of 470 nm NADH.

( $\text{N}_2$ -PLS measurement

The result (cancer / each organ ratio) obtained like the following is shown to Table 1.

Table 1 shows the value which measured each excitation fluorescence spectrum of each organ extracted 3 hours after the medicine administration, and computed the peak wavelength in 600 - 900 nm by making the peak

して600～900 nmでのピーク波長を算出した値を示す。 wavelength of 470 nm into a reference standard 1.

【0034】

[0034]

【表1】

[TABLE 1]

化 合 物 名	癌/臓器			
	癌/肝	癌/肺	癌/腎	癌/血清
(1) NOME-P-di Asp	0.16	0.91	0.25	1.07
(2) NOEt-P-di Asp	1.16	-	6.70	0.32
(4) NOCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -P-di Asp	1.84	17.0	34.0	5.40
(5) NOCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> F <sub>5</sub> -P-di Asp	2.80	14.0	2.80	0.07

Compound name

Cancer/organ:

Cancer/liver

Cancer/lungs

Cancer/kidney

Cancer/blood serum

【0035】

[0035]

実施例 9

Example 9

ダンシルメチオニンを用いる光増感酸化反応の評価

Evaluation of the photosensitization oxidation reaction using the dansyl methionine

基質 (ダンシルメチオニン) 10 μM をクロロホルム 1 ml に溶解し、前記実施例で得られた増感剤 0.1 μM を加え、攪拌

Substrate (dansyl methionine) 10 micro-M is dissolved in chloroform 1 ml, sensitizer 0.1 micro-M obtained in said Example was added, and it irradiated while stirring by Cold Spot



下に Cold Spot P.I. CL-SX (Nippon P.I. Co., Ltd.) (ハロゲンランプ、150W、80,000Lux) で照射した。光照射1分毎に反応液を TLC 板 (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>) にスポットし、クロロホルム-メタノール (3:2) で展開後、UV ランプ (254nm) でダンシルメチオニンとその酸化生成物 (ダンシルメチオニン スルホキシド) を確認した。TLC 板上でダンシルメチオニンが完全に消失した時間を反応終了時間とし、各増感剤の光酸化反応の強弱を比較検討した。その結果を図1および表2に示す。なお、図1中縦軸は R<sub>f</sub> を横軸は時間 (分) を示し、R<sub>f</sub> 値 0.79 はダンシルメチオニン、0.43 はダンシルメチオニン スルホキシドのスポットである。また、表2の数値は反応完了時間を分で示し、この値 (分) が小さければ小さいほど光酸化反応が強いことを意味する。

PICL-SX (Nippon P.I.Co.Ltd.) (halogen lamp, 150W, 80,000Lux).

The spot of the reaction mixture is carried out to TLC board (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>) for every photoirradiation minute, after developing with chloroform-methanol (3:2), dansyl methionine and its oxidation product (dansyl methionine sulfoxide) were confirmed with UV lamp (254 nm).

Let the hour which dansyl methionine lost completely on the TLC board be a reaction completion hour, comparison examination of the strength of the photooxidation reaction of each sensitizer was carried out.

The result is shown to FIG. 1 and Table 2.

In addition, the ordinate in FIG. 1 shows R<sub>f</sub> and a horizontal axis shows a time (minutes), R<sub>f</sub> value 0.79 is the dansyl methionine and 0.43 is the spot of a dansyl methionine sulfoxide.

Moreover, the numerical value of Table 2 shows the finalization hour of a reaction by minutes, it means that photooxidation reaction is stronger as this value (minutes) is smaller.

【0036】

[0036]

【表2】

[TABLE 2]

化 合 物 名	光反応の強さ
Photofrin II®	10<
(1) NOMe-P-diAsp	4
(2) NOEt-P-diAsp	4
(3) NOisoBu-P-diAsp	4
(4) NOCH <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> -P-diAsp	4
(5) NOCH <sub>2</sub> C <sub>2</sub> F <sub>5</sub> -P-diAsp	4

Compound name                      Strength of the photoreaction

## 【0037】

実施例    10

紫外線吸収スペクトル分析（アルブミンテスト）

ポルフィリン化合物はアルブミン溶液中で、二単量体あるいは多量体を形成することが知られている。この性質はアルブミン濃度を種々変えて分析を行うことで極大吸収値の移動または吸光係数の変動がみられることで判る。したがって癌細胞との親和性を検討するには簡単なスクリーニングテストである。アルブミン54mgを3mlの生理食塩水に溶解し、1.8%濃度とする。次いでこれを10倍希釈して0.18%とした液を公比3で希釈して各アルブミン濃度（1.8、0.18、0.06、0.02、0.0066、0.0022%）の液を調製した。一方、ポルフィリン誘導体1mgをリン酸緩衝液（pH8.

## [0037]

Example    10

Ultraviolet-absorption spectrum analysis (albumin test)

It is known that a porphyrins compound will form two monomers or a polymer in an albumin solution.

This character can be understood by the transfer of a maximum absorption value or fluctuation of an absorbancy index being seen by analyzing by changing various albumin concentration.

Therefore, in order to examine affinity with a cancer cell, it is the simple screening test.

Albumin 54 mg is dissolved in the 3 ml physiological saline, and it may be 1.8 % concentration.

Subsequently, the liquid which this was diluted 10 times and made into 0.18 % was diluted by the common ratio 3, and the liquid of each albumin concentration (1.8, 0.18, 0.06, 0.02, 0.0066, 0.0022 %) was prepared.

On the other hand, 1 mg of porphyrins derivatives is dissolved in 1 ml (pH8.0) of

0) 1 ml に溶解し、生理食塩水で 100 ml にした。そしてアルブミン希釈液 2 ml とポルフィリン溶液 2 ml を混合し、混液のアルブミン最終濃度を 0.9、0.09、0.03、0.01、0.0033、0.0011% とし紫外線吸収スペクトル測定 (350 ~ 900 nm) を行った。またアルブミン希釈液のかわりに生理食塩水およびメタノール溶液中でも同様に測定した。これらの測定結果を表 3 に示す。その代表例として、NOMe-P-diAsp (1) の紫外線吸収スペクトルを図 2 および図 3 に示す。

phosphoric-acid buffer, it was made 100 ml with the physiological saline.

And 2 ml of albumin dilution liquid and 2 ml of porphyrins solutions are mixed, the albumin final concentration of a mixed liquid was made into 0.9, 0.09, 0.03, 0.01, 0.0033, and 0.0011 %, and the ultraviolet-absorption spectrum was measured (350 - 900 nm).

Moreover, it measured similarly in the physiological saline and a methanol solution instead of albumin dilution liquid.

These measurement results are shown to Table 3.

As the representative example, the ultraviolet-absorption spectrum of NOMe-P-diAsp(1) is shown to FIG. 2 and FIG. 3.

【0038】

[0038]

【表 3】

[TABLE 3]

化 合 物 名	波 長 (nm)		
	生理 食塩水	メタノー ル	0.9 %ア ルブミン
(1) NOMe-P-diAsp	665	667	670
(2) NOEt-P-diAsp	665	667	670
(3) NOisoBu-P-diAsp	665	667	670
(4) NOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -P-diAsp	666	667	670
(5) NOCH <sub>2</sub> CF <sub>3</sub> -P-diAsp	666	666	670

Compound name

Wavelength (nm)

Physiological saline

Methanol

0.9% Albumin

## 【0039】

実施例 11

赤外吸収スペクトル分析

赤外分光光度計によりKBr錠剤法にて本誘導体の赤外吸収スペクトルを測定した。その代表例として、NOEt-P-diAsp(2)の赤外吸収スペクトルを図4に示す。

## [0039]

Example 11

Infrared-absorption-spectrum analysis

The infrared absorption spectrum of this derivative was measured in the KBr tablet method with the infrared spectrophotometer. As the representative example, the infrared absorption spectrum of NOEt-P-diAsp(2) is shown in FIG. 4.

## 【0040】

## [0040]

【発明の効果】

[ADVANTAGE of the Invention]



本発明のポルフィリン誘導体は、癌細胞への集積性、外部エネルギーに対する反応性ならびに癌細胞の破壊作用を有し、しかも正常細胞に対して毒性を発現することがないから、癌治療薬あるいは癌診断薬として究めて有用である。

The porphyrins derivative of this invention has the integration property to a cancer cell, the reactivity with respect to an external energy, and a destruction effect of a cancer cell, and since a toxicity is not expressed to a normal cell, it is very useful as the cancer therapeutic agent or a cancer diagnostic.

**【図面の簡単な説明】****[BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS]****【図 1】**

NOisoBu-P-diAsp(3) テトラメチルエステルを増感剤として用いた薄層クロマトグラムを示す図である。

**[FIG. 1]**

It is the figure which shows the thin-layer chromatogram using NOisoBu-P-diAsp(3) tetramethyl ester as a sensitizer.

**【図 2】**

NOMe-P-diAsp(1) の紫外吸収スペクトルを示す図である。

**[FIG. 2]**

It is the figure which shows the ultraviolet absorption spectrum of NOMe-P-diAsp(1).

**【図 3】**

NOMe-P-diAsp(1) の紫外吸収スペクトルを示す図である。

**[FIG. 3]**

It is the figure which shows the ultraviolet absorption spectrum of NOMe-P-diAsp(1).

**【図 4】**

NOEt-P-diAsp(2) の赤外吸収スペクトルを示す図である。

**[FIG. 4]**

It is the figure which shows the infrared absorption spectrum of NOEt-P-diAsp(2).

**【符号の説明】****[Description of Symbols]**

1 ポルフィリン溶液と生理食塩水の混液（アルブミン濃度

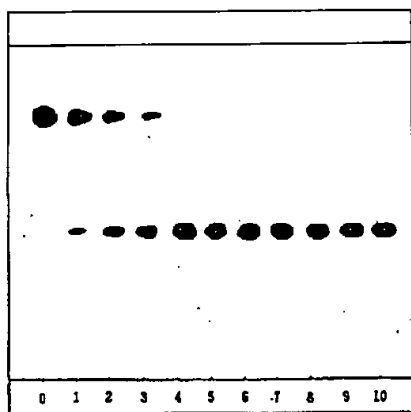
1 Mixed liquid of porphyrin solution and physiological saline (0 % of albumin



- |  |  |
|--|--|
| 0 %)                                     | concentration)   |
| 2 ポルフィリン溶液とアルブミン溶液の混液 (アルブミン濃度 0.0011 %) | 2 Mixed liquid of porphyrins solution and albumin solution (0.0011 % of albumin concentration) |
| 3 ポルフィリン溶液とアルブミン溶液の混液 (アルブミン濃度 0.0033 %) | 3 Mixed liquid of porphyrins solution and albumin solution (0.0033 % of albumin concentration) |
| 4 ポルフィリン溶液とアルブミン溶液の混液 (アルブミン濃度 0.01 %)   | 4 Mixed liquid of porphyrins solution and albumin solution (0.01 % of albumin concentration)   |
| 5 ポルフィリン溶液とアルブミン溶液の混液 (アルブミン濃度 0.03 %)   | 5 Mixed liquid of porphyrins solution and albumin solution (0.03 % of albumin concentration)   |
| 6 ポルフィリン溶液とアルブミン溶液の混液 (アルブミン濃度 0.09 %)   | 6 Mixed liquid of porphyrins solution and albumin solution (0.09 % of albumin concentration)   |
| 7 ポルフィリン溶液とアルブミン溶液の混液 (アルブミン濃度 0.9 %)    | 7 Mixed liquid of porphyrins solution and albumin solution (0.9 % of albumin concentration)    |
| 8 ポルフィリン溶液とメタノールの混液                      | 8 Mixed liquid of porphyrin solution and methanol  |

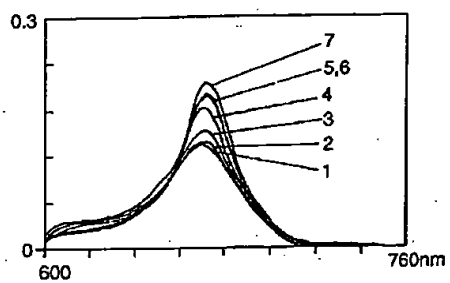
【図 1】

[FIG. 1]



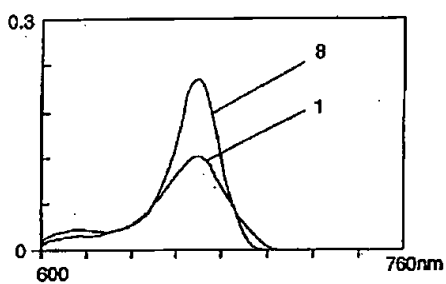
【図 2】

[FIG. 2]



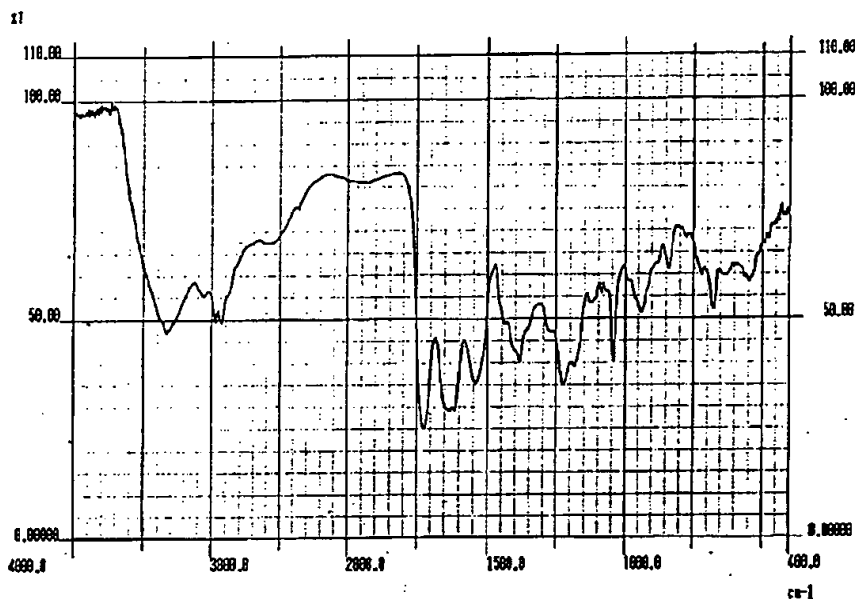
【図 3】

[FIG. 3]



【図 4】

[FIG. 4]





## DERWENT TERMS AND CONDITIONS

*Derwent shall not in any circumstances be liable or responsible for the completeness or accuracy of any Derwent translation and will not be liable for any direct, indirect, consequential or economic loss or loss of profit resulting directly or indirectly from the use of any translation by any customer.*

Derwent Information Ltd. is part of The Thomson Corporation

Please visit our home page:

["WWW.DERWENT.CO.UK"](http://WWW.DERWENT.CO.UK) (English)

["WWW.DERWENT.CO.JP"](http://WWW.DERWENT.CO.JP) (Japanese)